Bulletin de la Société entomologique de France, **118** (3), 2013 : 393-398.

Premiers signalements de *Cyphomyrmex minutus* Mayr, 1862, à Saint-Barthélemy, Petites Antilles, et au Mexique (Hymenoptera, Formicidae, Attini)

par Léonide Célini*, Virginie Roy*, Jacques H. Ch. Delabie**, Sandrine Caquineau***, Karl Questel**** & Philippe Mora*

*BIOEMCO-équipe IBIOS, UFR Sciences et Technologie, Université Paris-Est Créteil, 61 avenue Charles-de-Gaulle, F – 94010 Créteil cedex <celini@u-pec.fr>

** Laboratório de Mirmecologia, UESC/CEPLAC, Centro de Pesquisa do Cacau, 45600-000 Itabuna BA, Brésil

***UMR L'OCEAN CNRS –UPMC- IRD Centre IRD France Nord, 32 avenue Henri-Varagnat, F – 93143 Bondy

****Association Alsophis, Saint-Barthélemy

Résumé. – Nous mentionnons pour la première fois la Fourmi champignonniste *Cyphomyrmex minutus* Mayr, 1862, à Saint-Barthélemy et au Mexique. Des caractères diagnostiques morphologiques permettant de l'identifier sont présentés. Une analyse moléculaire réalisée avec la séquence de référence du Barcode (gène de la cytochrome oxydase I, ou COI) suggère que les spécimens examinés appartiennent à une espèce qui n'a jamais été séquencée auparavant pour ce gène. L'identification moléculaire des spécimens, associée à une identification morphologique, pourra servir de référence pour toute comparaison ultérieure des spécimens de cette espèce collectés dans d'autres localités.

Abstract. – **Presence of the fungus-growing ant *Cyphomyrmex minutus* Mayr, 1862, in Saint-Barthélemy, French West Indies, and Mexico (Hymenoptera, Formicidae, Attini)**. This is the first mention of the fungus-growing ant *Cyphomyrmex minutus* Mayr, 1862, in Saint-Barthélemy and in Mexico. Morphological diagnosis criteria to identify specimens are presented. A molecular analysis performed with the standardized Barcode sequence (cytochrome oxidase I gene, or COI) suggests that examined specimens belong to a species that has never been sequenced for this gene. The molecular identification combined with morphological identification can be used as a reference for later comparison of specimens of this species collected in other localities.

Keywords. – Ants, *Cyphomyrmex minutus,* new record, diagnosis, molecular analysis, barcode.

Le genre *Cyphomyrmex* Mayr, 1862, de la tribu des Attini Smith, 1858, sous-famille des Myrmicinae Lepeletier, 1835, est endémique du Nouveau Monde. Comme tous les membres de la tribu, les fourmis du genre *Cyphomyrmex* sont des champignonnistes. Souvent qualifiées "d'inférieures" (Wheeler, 1907 ; Mueller *et al.*, 2001), le substrat qu'elles cultivent s'apparente à une levure qui se développe sur la matière végétale ou sur des carcasses d'insectes (Mehdiabadi & Schultz, 2010). A l'heure actuelle, le genre *Cyphomyrmex* renferme 38 espèces valides (Bolton, 2012). Elles sont essentiellement néotropicales, à l'exception d'une espèce néarctique et de deux autres présentes aussi bien en région Néotropicale que Néarctique. Kempf (1964, 1966) fit deux révisions majeures des espèces et subdivisa le genre *Cyphomyrmex* en deux groupes, *rimosus* et *strigatus*. Une espèce supplémentaire fut ajoutée au groupe *rimosus* par Kempf (1968) et quatre autres par Snelling & Longino (1992), qui ont reconnu 21 espèces dans ce même groupe. Mais ces révisions demeurent encore inachevées, sachant que d'autres morphospecies (non décrites) sont connues et qu'il existe différents taxons infraspécifiques insuffisamment définis (Kempf, 1968 ; Schultz *et al.*, 2002). Le statut taxinomique des espèces du groupe *rimosus* prête donc encore à confusion avec les informations morphologiques existantes. Certaines des espèces de ce groupe peuvent présenter un très haut degré d'endémisme et de diversité (Snelling & Longino, 1992 ; Schultz *et al.*, 2002). Elles peuvent être

cryptiques et difficiles à distinguer, portant parfois des noms infraspécifiques souvent mis en synonymie. SNELLING & LONGINO (1992), en se basant sur la taille, la pilosité et l'étendue du sillon basal médian du premier segment gastral, incluent sept taxons au sein du groupe *rimosus sensu stricto* : *Cyphomyrmex dixus* Snelling & Longino, 1992, *C. hamulatus* Weber, 1938, *C. longiscapus* Weber, 1940, *C. major* Forel, 1901, *C. rimosus* (Spinola, 1851), *C. transversus* Emery, 1894, et *C. minutus*.

Dans le cadre de missions d'inventaires des Fourmis de l'île de Saint-Barthélemy, pour le compte de l'association *Saint Barth Essentiel*, nous avons collecté en 2011 et 2012 la fourmi champignonniste *Cyphomyrmex minutus* Mayr, 1862. Cette espèce, identifiée d'après SNELLING & LONGINO (1992) [clé et figures 30.6 et 30.14], se trouve aussi bien en région Néarctique que Néotropicale (ADAMS & LONGINO, 2007). Elle est en effet signalée aux Etats-Unis (du Texas à la Floride), dans le sud de l'Amérique Centrale et au nord de l'Amérique du Sud ainsi que dans de nombreuses îles des Caraïbes. Sa localité-type est Cuba. Elle est également présente en Jamaïque, Haïti, Guadeloupe, Marie-Galante, les Saintes et Martinique (SNELLING & LONGINO, 1992). Cette espèce n'avait jamais été signalée à Saint-Barthélemy, probablement en raison de l'inexistence d'un inventaire des Fourmis de l'île. Certains auteurs considèrent que cette espèce pourrait comporter des variations géographiques, qui auraient pu donner des formes sympatriques discrètes dans certaines localités ou des formes très distinctes dans d'autres. Il n'est d'ailleurs pas exclu que les mentions de la présence de *Cyphomyrmex rimosus* (Spinola, 1851) en Guadeloupe, Marie-Galante, Les Saintes et Martinique (JAFFE & LATTKE, 1994) fassent en fait référence à *C. minutus* avec laquelle elle peut être facilement confondue. Il apparaît donc important et urgent d'associer les caractères diagnostiques morphologiques de ce taxon à son code-barre ADN, afin de pouvoir l'identifier sans ambiguïté.

Materiel examiné. – Dix individus échantillonnés à Saint-Barthélemy, dans la zone du Grand Cul-de-Sac (17°54'13"N - 62°49'44"O), milieu ouvert urbanisé : cinq fourrageant au sol et cinq prélevés dans des pièges "pitfall". Deux femelles (sans ailes) et trois ouvrières ont été déposées dans la collection (CPDC) du Laboratoire de Myrmécologie du Centre de Recherche sur le Cacao, Ilhéus, Bahia, Brésil, sous le code d'accès #5671. Du matériel biologique de la même espèce et conservé dans la collection CPDC a aussi été étudié, comme suit : Mexique, Veracruz, Los Tuxlas, VII.2001, *Antoine Pezon leg*., une ouvrière ; Panama, San Lorenzo forest, HYFOMY-12000571, 16.II.2005, *leg. IBISCA team*, une ouvrière. À noter que la localité mexicaine constitue aussi le premier signalement de cette espèce pour ce pays. Sa présence au Mexique paraît assez logique, *Cyphomyrmex minutus* étant jusqu'alors connue du sud-est des Etats-Unis au sud de l'Amérique Centrale. Les autres spécimens collectés à Saint-Barthélemy (ouvrières et femelles) sont déposés dans la collection entomologique de l'université Paris-Est Créteil.

Description des ouvrières major. – Longueur : 1,8 à 2,1 mm ; tête large de 0,52 à 0,56 mm. Couleur variant du jaune clair au brun orangé. Tête jaune pâle avec face avant jaune orangé. Scape brun foncé ; funicule, pattes, thorax, pédicule et premier segment du gastre jaune clair ; les autres segments du gastre brun orangé.

Tête. Disque céphalique presque plat, avec soies courtes et dilatées, régulièrement dispersées dans certaines zones, rares ou absentes dans d'autres. Mandibules à 5 dents. Clypéus avec une dent à chaque extrémité du bord antérieur légèrement concave. Carènes frontales sigmoïdes, atteignant les extrémités sub-angulaires du bord occipital peu concave, se prolongeant vers l'avant par des lobes frontaux semi-circulaires qui recouvrent entièrement la joue. Les carènes pré-oculaires se courbent vers les carènes frontales, mais ne dépassent pas les yeux. Antennes de 11 articles avec scape dépassant le coin occipital, d'une distance aussi grande que sa plus grande largeur ; l'article I du funicule aussi long que les articles II et III réunis (fig. 1-5).

Alitronc. Aspect bosselé dû à la présence de tubercules : 2 tubercules latéraux et 2 médians plus petits sur le pronotum ; 2 tubercules mésosomaux oblongs, inclinés en angle obtus. Propodeum sans épine, métanotum lisse. Spiracles mésonotaux arrondis, situés près d'un faible sillon carénal ; spiracles propodéaux ovoïdes, sur une légère proéminence. Articles des tarses de la patte I courts excepté le cinquième dilaté. Pétiole transversal mais arrondi au milieu des plus petits côtés, post-pétiole plus large que long (fig. 6-11).

Gastre. Parsemé de soies courtes, sauf le centre du tergum du premier segment gastral, dépourvu de sillon médian, les soies plus distantes entre elles que leur propre longueur (fig. 12).

On peut considérer que tous les spécimens observés correspondent à la diagnose retenue par Snelling & Longino (1992) pour identifier l'espèce *Cyphomyrmex minutus*. Cependant, divers spécimens identifiés par certains auteurs comme *C. minutus* montrent quelques différences morphologiques avec ce taxon. C'est le cas pour des individus de Jamaïque dont les tubercules mésosomaux sont beaucoup plus acérés ou dans certaines populations d'Amérique Centrale dont les scapes des antennes sont plus courts.

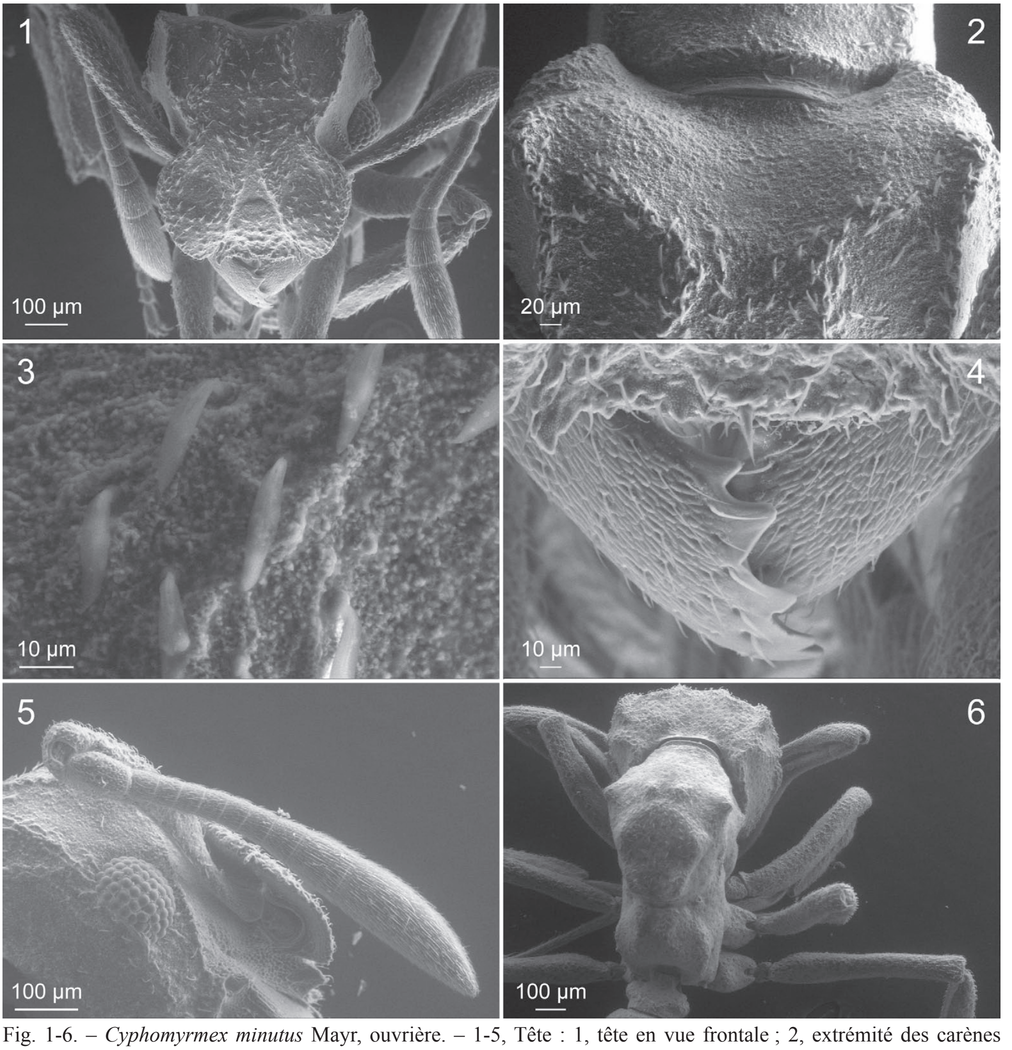


Fig. 1-6. – *Cyphomyrmex minutus* Mayr, ouvrière. – 1-5, Tête : 1, tête en vue frontale ; 2, extrémité des carènes frontales avec soies ; 3, détail des soies ; 4, mandibule à 5 dents et bord postérieur du clypéus ; 5, limite de la carène pré-oculaire. – 6, Vue dorsale du mésosoma montrant les tubercules.

Biologie. – Cette espèce semble être terricole et fourrage isolément ou par petits groupes. En zone urbanisée, elle a été observée formant des fourmilières peu populeuses aménagées dans les interstices d'amas de roches consolidées, ou fourrageant sur le sol en transportant des débris de végétaux ou d'insectes. Au Venezuela et au Costa Rica, elle est signalée nichant sous des tapis d'épiphytes ou sous des arbres récemment tombés.

Analyse ADN. – Le code-barres ADN utilise la variabilité génétique de courtes régions nucléotidiques standardisées pour aider à l'identification et à la découverte de nouvelles espèces. La séquence choisie pour le Barcode chez les animaux et utilisée dans cette étude sur les fourmis de Saint-Barthélemy est un fragment de l'ordre de 650 paires de bases (pb) du gène de la cytochrome oxydase I (COI) (Hebert *et al.*, 2003a ; Hebert *et al.*, 2003b). L'ADN génomique total a été extrait pour une ouvrière (tête et thorax) à l'aide du kit *DNeasy Blood & Tissue Kit* (Qiagen). Chaque réaction de PCR a été réalisée dans un volume final de 40 µL, comprenant 1×

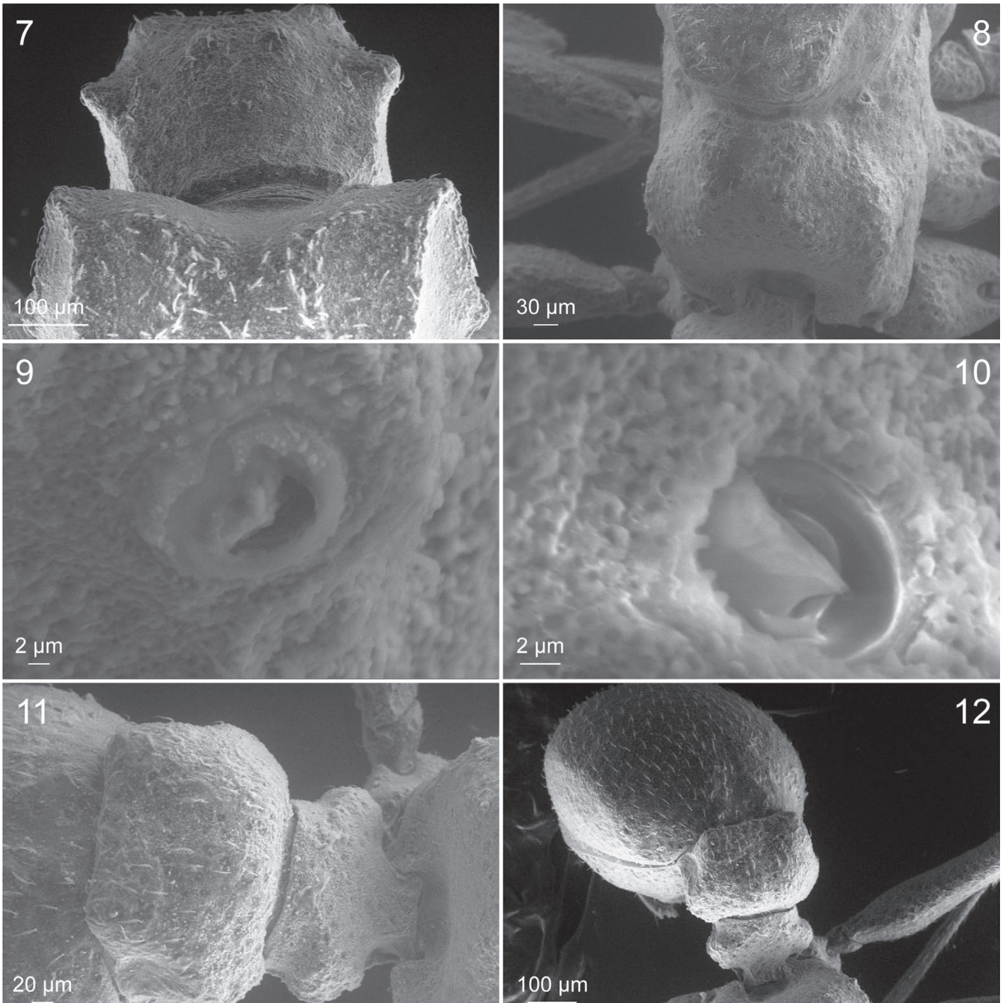


Fig. 7-12. – *Cyphomyrmex minutus* Mayr, ouvrière, alitronc et gastre. – 7, Tubercules pronotaux. – 8, Métanotum et spiracles mésothoracique et propodéal. – 9, Détail d'un spiracle propodéal. – 10, Détail d'un spiracle mésothoracique. – 11, Pétiole et post-pétiole en vue dorsale. – 12, Gastre en vue dorsale.

de tampon Colorless GoTaq® Flexi Buffer (Promega, France), 2,5 mM de $MgCl_2$, 0,5 mM de dNTPs, 0,2 µM de chaque amorce (LCO1490F : 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' et HCO2198R : 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'), 0,25 U/µL de GoTaq® Flexi Polymerase et 20 ng d'ADN. Les conditions de PCR étaient les suivantes : une étape de dénaturation initiale à 94°C pendant 3 min, 40 cycles comprenant une étape de dénaturation à 94°C pendant 30 s, une étape d'hybridation à 50°C pendant 45 s, une étape d'élongation à 72°C pendant 1 min, et une étape d'élongation finale à 72°C pendant 10 min. Le produit PCR a ensuite été envoyé pour séquençage au laboratoire Beckman Coulter Genomics (UK).

Résultats et discussion. – Après visualisation, la séquence de 658 pb a été soumise à Genbank sous le numéro d'accession JX625155. Elle a ensuite été analysée par BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/) et par le système d'identification BOLD (IDS, http://www.boldsystems.org/). Les résultats du BLAST indiquent que la séquence la plus proche disponible dans les banques de données nucléotidiques est celle d'un *Cyphomyrmex sp.* (Score 630, Evalue, 3e-177, 84 % d'identité, 98 % de recouvrement), inscrite sous le numéro d'accession GenBank DQ353380 (Moreau *et al.*, 2006). Aucune séquence n'a été ramenée par IDS avec une identification à l'échelle spécifique (option "Species Level Barcode Records"). La séquence ramenée avec le plus fort pourcentage de similitude par IDS est aussi celle d'un *Cyphomyrmex sp*. (96,4 %) (option "All Barcode Records on BOLD"**)**.

L'étude diagnostique des spécimens d'après Snelling & Longino (1992) confirme l'identité de l'espèce *Cyphomyrmex minutus*. Les résultats de l'analyse moléculaire suggèrent que la population de Saint-Barthélemy appartient à un taxon qui n'a jamais été identifié auparavant au niveau de l'espèce ou séquencé pour le gène COI. Cette étude associant l'identification morphologique et le code-barres ADN pourrait servir de référence pour toute comparaison ultérieure de spécimens de cette espèce collectés dans d'autres localités.

Remerciements. – La présente étude réalisée pour l'association *Saint Barth Essentiel* à Saint-Barthélemy a bénéficié du soutien logistique de la compagnie Air France. Nous remercions L'UMR L'OCEAN CNRS–UPMC-IRD Centre IRD Bondy France pour nous avoir permis de réaliser les photographies en microscopie à balayage. Nous remercions Claire Villemant (Muséum national d'Histoire naturelle, Paris) pour nous avoir donné l'accès à sa documentation. JHCD est titulaire d'une bourse de recherche du CNPq (Brésil).

Auteurs cités

Adams R. & Longino J., 2007. – Nesting biology of the arboreal fungus-growing ant *Cyphomyrmex cornutus* and behavioral interactions with the social-parasitic ant *Megalomyrmex mondabora*. *Insectes Sociaux,* **54** : 136-143.

Bolton B., 2012. – *Bolton's Catalogue and Synopsis*. http://gap.entclub.org. Version du 1er janvier 2012.

Hebert P. D., Cywinska A., Ball S. L. & Waard J. R. de, 2003a. – Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London,* (B) **270** : 313-322.

Hebert P. D. N., Ratnasingham S. & Waard J. R. de, 2003b. – Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London,* (B) **270** : 96-99.

Jaffe K. & Lattke J., 1994. – Ant fauna of the French and Venezuelan islands in the Caribbean (p. 181-190). *In* : Willams D. F. (éd.), *Exotic ants, Biology, impact, and control of introduced species*. Boulder : Westview Press, 332 p,

Kempf W. W., 1964. – A revision of the Neotropical fungus-growing ants of the genus *Cyphomyrmex* Mayr. Part II: Group of *rimosus* (Spinola) (Hym., Formicidae). *Studia Entomologica,* **8** : 161-200.

—— 1966. – A revision of the Neotropical fungus-growing ants of the genus *Cyphomyrmex* Mayr. Part II: Group of *strigatus* (Spinola) (Hym., Formicidae). *Studia Entomologica,* **7** : 4-44.

—— 1968. – A new species of *Cyphomyrmex* from Colombia, with further remarks on the genus (Hymenoptera , Formicidae). *Revista Brasileira de Entomologia,* **8** : 25- 41.

Mayr G., 1862. – Myrmecologische Studien. *Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien,* **2** : 649-766.

Mehdiabadi N. J. & Schultz T. R., 2010. – Natural history and phylogeny of the fungus-farming ants (Formicidae: Myrmicinae: Attini). *Myrmecological News,* **13** : 37-55.

Moreau C. S., Bell C. D., Vila R., Archibald S. B. & Pierce N. E., 2006. – Phylogeny of the Ants: Diversification in the Age of Angiosperms. *Science,* **312** : 101-104.

Mueller U., Schultz T., Currie C., Adams R. & Malloch D., 2001. – The origin of the attine ant-fungus mutualism. *Quarterly Review of Biology,* **76** : 169-197.

Schultz T. R., Solomon S. A., Mueller U. G., Villesen P., Boomsma J. J., Adams R. M. M. & Norden B., 2002. – Cryptic speciation in the fungus-growing ants *Cyphomyrmex longiscapus* Weber and *Cyphomyrmex muelleri* Schultz and Solomon, new species (Formicidae, Attini). *Insectes Sociaux,* **49** : 331-343.

Snelling R. & Longino J., 1992. – Revisionary notes on the fungus-growing ants of the genus *Cyphomyrmex*, *rimosus* group (Hymenoptera: Formicidae: Attini) (p. 479-494). *In* : Quintero D. & Aiello A. (éds), *Insects of Panama and Meso America: Studies*. Oxford University Press, xxii + 692 p.

Wheeler W. M., 1907. – Jamaican ants collected by Prof. C. Brues. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology,* **61** : 195-471.